

Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Curso de Farmácia

Vitor Thiago Cavalcante de Carvalho

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS FITOTERÁPICAS
MANIPULADAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS DE JOÃO PESSOA -
PB**

João Pessoa

2014

VITOR THIAGO CAVALCANTE DE CARVALHO

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS FITOTERÁPICAS
MANIPULADAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS DE JOÃO PESSOA -
PB

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Ciências Farmacêuticas, do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba como exigência
parcial para obtenção do título de
Farmacêutico Generalista (Graduação em
Farmácia).

Orientador: Dr. José Soares do
Nascimento

João Pessoa

2014

C331q *Carvalho, Vitor Thiago Cavalcante de.*

*Qualidade microbiológica de cápsulas fitoterápicas
manipuladas em farmácias magistrais de João Pessoa-PB/ Vitor
Thiago Cavalcante de Carvalho. - - João Pessoa: [s.n.], 2014.*

35f.: il. -

Orientador: José Soares do Nascimento.

Monografia (graduação) - UFPB/CCS.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA

VITOR THIAGO CAVALCANTE DE CARVALHO

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS FITOTERÁPICAS
MANIPULADAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS DE JOÃO PESSOA -
PB

Monografia aprovada em ____/____/____ para obtenção do título
de Farmacêutico Generalista.

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Soares do Nascimento

(Orientador)

Prof^a. Ms^a Regina Lúcia Guedes Pereira de Farias

(Membro externo)

Prof. Pablo Queiroz Lopes

(Membro interno)

*Aos meus pais, por todo o amor e carinho a mim
dedicados e por não medirem esforços para que eu pudesse me
dedicar integralmente à graduação.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me presentear com o dom da vida duas vezes e por ser a força em todos os meus momentos de fraqueza.

Ao meu pai, Valderi Alves de Carvalho, um exemplo de pessoa que eu procuro seguir.

À minha mãe, Virginia Apgar C. de Carvalho, pelo seu amor incondicional e por sempre me aconselhar sabiamente.

Às minhas irmãs, Leticia e Gabriele, por serem a alegria dos meus dias, melhores presentes que Deus me deu.

A todos os familiares pelo apoio e pelos bons momentos que acontecem quando nos reunimos.

Ao professor Nascimento, pela sua paciência e confiança no meu trabalho, pelos ensinamentos transmitidos e por passar tranquilidade e segurança.

Aos amigos, por me proporcionarem momentos de extrema alegria, mas também estarem presentes nos momentos em que houve tristeza.

Aos professores, por acreditarem na educação como instrumento de mudança social.

R E S U M O

CARVALHO, V.T.C. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS FITOTERÁPICAS MANIPULADAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS DE JOÃO PESSOA-PB. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – CCS/UFPB João Pessoa – PB.

O controle de qualidade microbiológico do produto constitui um dos atributos essenciais para seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e estabilidade. Em 2007, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) instituiu a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 67, que define as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinais para Uso Humano em Farmácias, buscando estabelecer parâmetros essenciais, para que as farmácias de manipulação possam produzir com a garantia da qualidade. Para o controle de qualidade são realizados ensaios físico-químicos e microbiológicos, pela contagem de patógenos e de microrganismos viáveis em produtos não estéreis. As cápsulas fitoterápicas se enquadram na categoria de não estéreis, mais especificamente como medicamento de origem natural, e assim como toda a fitoterapia vem tendo sua utilização crescente pela população, exigindo maior controle de qualidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de cápsulas contendo medicamentos de origem vegetal manipuladas em farmácias magistrais de João Pessoa-PB. Foram adquiridas duas amostras de cada farmácia, que foram analisadas através do método de diluição seriada e semeadura em superfície, utilizando-se meios de cultura apropriados para o crescimento de bactérias e fungos. Os resultados obtidos demonstraram que não houve crescimento microbiano nas amostras estudadas, indicando que elas atendem as especificações, e atestam a qualidade e segurança no processo produtivo executado nas farmácias magistrais em questão, reforçando a importância do cumprimento das Boas Práticas de Manipulação.

Palavras-chave: Controle da Qualidade Microbiológico, Cápsulas Fitoterápicas, Farmácia Magistral.

ABSTRACT

CARVALHO, V.T.C. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE CÁPSULAS FITOTERÁPICAS MANIPULADAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS DE JOÃO PESSOA-PB. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – CCS/UFPB João Pessoa – PB.

The microbiological quality control of a product is one of the essential attributes for its adequate performance, especially related with safety, effectiveness and stability. In 2007, the National Health Surveillance Agency (ANVISA) instituted the Board Resolution 67, which defines the Good Handling Practices for compounding preparations for human use in pharmacies, seeking to establish essential parameters, so the compounding pharmacies could produce with quality assurance. For the quality control physic-chemical and microbiological trials are made by counting pathogens and viable microorganisms in non-sterile products. The herbal capsules fits into the category of non-sterile, more specifically as drugs of natural origin, and like all herbal medicine, is having a growth in its use by the population, demanding better quality control. The objective of this study was to evaluate the microbiological quality of capsules containing drugs of natural origin handled in compounding pharmacies in João Pessoa-PB. Two samples of each pharmacy were obtained, which were analyzed by the method of serial dilution and spread-plate, using appropriate culture media for the growth of both, fungi and bacteria. The results showed no microbial growth in the samples studied, indicating that they meet the specifications, and attest to the quality and safety in the production process ran into the compounding pharmacies in question, reinforcing the importance of compliance of the Good Handling Practices.

Keywords: Microbiological Quality Control, Herbal Capsules, Compounding Pharmacy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Manipulação de cápsulas.....	13
Figura 2: Medicamento fitoterápico manipulado em farmácia magistral.....	17
Figura 3: Ágar Mùeller-Hinton utilizado para preparo do meio de cultura.....	25
Figura 4: Batatas utilizadas na preparação do meio BDA	25
Figura 5: Esquema da diluição seriada das amostras.....	26

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Limites microbianos em preparações de produtos não estéreis	19
Quadro 2: Limites microbianos para medicamentos contendo matéria-prima de origem vegetal.....	20
Quadro 3: Esquema fatorial incluindo os produtos e números de farmácias magistrais analisadas, em João Pessoa-PB	24
Quadro 4: População bacteriana e fúngica presente nas cápsulas manipuladas em três farmácias magistrais de João Pessoa-PB, em 2014.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A N V I S A	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
B D A	Batata dextrose acidificado
B P M	Boas Práticas de Manipulação
m g	Miligramas
M H	Mueller-Hinton
m L	Mililitros
p H	Potencial hidrogeniônico
R D C	Resolução da diretoria colegiada
U F C	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
	2.1 Evolução da Farmácia Magistral e sua regulação	13
	2.2 Fitoterapia no Brasil.....	15
	2.3 Controle microbiológico e limites microbianos	18
	2.4 Contaminação microbiana e os principais gêneros envolvidos	20
3	JUSTIFICATIVA	22
4	OBJETIVOS	23
	3.1 Gerais	23
	3.2 Específicos	23
5	MATERIAIS E MÉTODOS	24
	5.1 Local da Pesquisa	24
	5.2 Plano de amostragem	24
	5.3 Preparo dos meios de cultura para bactérias	24
	5.4 Preparo dos meios de cultura para fungos	25
	5.5 Método	26
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
7	CONCLUSÃO	29
8	REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

O controle da qualidade em farmácias magistrais é extremamente importante para as matérias-primas, principalmente as de origem vegetal e para as bases às quais serão incorporados os princípios ativos. Os testes de qualidade avaliam as características microbiológicas e físico-químicas das amostras, sendo que os resultados encontrados devem estar de acordo com as especificações farmacopeicas, legislações vigentes e artigos científicos (BRASIL, 2008).

O controle de qualidade microbiológico do produto constitui um dos atributos essenciais para seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e estabilidade (YAMAMOTO, 2004). Nesse contexto, a microbiologia farmacêutica, que estuda a presença de microrganismos nas formulações farmacêuticas e em suas matérias-primas, tem o objetivo de garantir que o número de microrganismos presentes (viáveis e/ou patogênicos) esteja dentro de padrões estabelecidos pelos órgãos reguladores, não interferindo na qualidade final do produto e não representando risco à saúde do usuário.

Em termos de carga microbiana, os medicamentos são divididos em estéreis e não estéreis, onde as cápsulas de fitoterápicos são classificadas como não estéreis (Figura 1). Estes produtos admitem a presença de certa carga microbiana, desde que sejam observados os limites estabelecidos pela legislação específica, que compreende a RDC 481, de 23 de setembro de 1999 (ANVISA) e a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), onde constam os valores permitidos para presença de microrganismos não patogênicos e a ausência de microrganismos patogênicos.

Os microrganismos considerados patogênicos pelo controle de qualidade microbiológico referem-se à *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, isso porque esses microrganismos são conhecidamente capazes de causar quadros clínicos infecciosos nos seres humanos, bem como atestam a falta de assepsia no preparo dos produtos, por serem microrganismos indicadores.

Figura 1: Manipulação de cápsulas

Fonte: <www.alquifarmaatibaia.com.br>

O uso de medicamentos de origem vegetal é uma alternativa medicamentosa economicamente viável e com menores efeitos adversos para muitas pessoas (ZARONI *et al.*, 2004). Estima-se que as vendas globais de produtos à base de plantas totalizaram cerca de 60 milhões de dólares em 2000 (VERDI, 2013), refletindo diretamente na preocupação com a qualidade e a segurança desses produtos pelas autoridades de saúde pública. Vários estudos já demonstraram a presença de populações microbianas acima dos níveis permitidos, inclusive com presença de patógenos, em materiais de origem vegetal (ZARONI *et al.*, 2004; MULLER; BASEDOW, 2007; BIANCO *et al.*, 2008).

Nesse contexto, serão selecionadas amostras de cápsulas contendo matéria-prima de origem vegetal para o estudo, esperando-se que não existam microrganismos não permitidos, que poderiam afetar diretamente a estabilidade das formulações.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Evolução da Farmácia Magistral e sua regulação

De acordo com a RDC 67/07, Farmácia de Manipulação é um estabelecimento que produz fórmulas magistrais e oficinais, comercializam fármacos, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos. Estabelece ainda que o profissional farmacêutico é aquele habilitado a conhecer as formas farmacêuticas,

a manipular as matérias-primas e a técnica correta para se obter o medicamento desejado; é também o responsável por toda a garantia e implementação da qualidade no setor magistral (BRASIL, 2007).

As farmácias magistrais atualmente representam um importante segmento do mercado brasileiro de medicamentos, porém este cenário é relativamente recente. Isso porque devido ao advento da indústria farmacêutica na década de 1950, este setor quase que desapareceu completamente, e junto com ele o profissional farmacêutico responsável pela dispensação e assistência farmacêutica (RIBEIRO, 2003).

O ressurgimento no Brasil ocorreu na década de 1980, devido às restrições às importações e ao controle rigoroso dos preços pelo governo. Com esse cenário, muitas indústrias deixaram de produzir medicamentos, abrindo espaço para o fortalecimento do mercado magistral.

Até o final da década de 90, o setor se dividia entre a manipulação alopática e homeopática, restringindo-se à manipulação de formulações personalizadas prescritas por apenas algumas especialidades médicas, como a dermatologia por exemplo. Este período foi um dos mais rentáveis economicamente, pois quase não havia concorrência e o investimento no processo de produção, qualificação e garantia de qualidade era muito menor do que o aplicado atualmente (BARG; MATOS, 2012).

Porém foi no ano 2000, com a criação da RDC 33/2000, publicada em 19 de abril pela ANVISA, que dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação e com o advento do medicamento genérico, quando muitos médicos passaram a prescrever utilizando o nome do princípio ativo ao invés do nome da marca, que houve uma explosão no número de farmácias de manipulação. Esse aumento no número de farmácias, e conseqüentemente no número de medicamentos manipulados, resultou em uma preocupação ainda maior com a qualidade desses produtos.

Nesse contexto, a ANVISA lançou em 2005 a consulta pública número 3, onde foram discutidos pontos falhos na RDC 33, com a intenção de estabelecer critérios mais rígidos para a manipulação no Brasil. Foi criada então a RDC N° 214,

em 12 de dezembro de 2006, que foi posteriormente revogada pela RDC N° 67, resolução esta que vigora até a presente data (BRASIL, 2007).

A RDC 67 define as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias, buscando estabelecer rígidos parâmetros de qualidade em todas as etapas de fabricação de um produto manipulado de forma magistral. Tem como objetivo fixar os requisitos mínimos exigidos para o exercício das atividades de manipulação de preparações magistrais e oficiais das farmácias, desde suas instalações, equipamentos e recursos humanos, aquisição e controle da qualidade da matéria-prima, armazenamento, avaliação farmacêutica da prescrição, manipulação, fracionamento, conservação, transporte, dispensação das preparações, além da atenção farmacêutica aos usuários ou seus responsáveis, visando à garantia de sua qualidade, segurança, efetividade e promoção do seu uso seguro e racional (BRASIL, 2007).

Segundo Guedes (2007), a RDC 67/07 reflete o amadurecimento dos setores reguladores e regulados e fixa os novos padrões de excelência farmacêutica em termos técnicos, científicos, de segurança e gerenciais, que resultarão na possibilidade efetiva de dar à sociedade uma garantia de qualidade certificada para a farmácia magistral em todas as fases do processo de manipulação de produtos e prestação de serviços.

Existe no Brasil cerca de 7.295 estabelecimentos magistrais e 1.240 homeopáticos e aproximadamente 18.000 farmacêuticos que trabalham nestes estabelecimentos (CFF, 2008). Em 2010 o setor magistral possuía aproximadamente 10% de todo mercado de medicamentos no Brasil, que é o oitavo maior mercado do mundo nesse segmento, o que demonstra sua importância crescente.

2.2 Fitoterapia no Brasil

O uso de produtos medicinais à base de plantas é prática comum na terapêutica, desde os tempos mais remotos. O mercado de fitoterápicos decaiu com o desenvolvimento dos medicamentos sintéticos no pós-guerra, porém vem apresentando um crescimento marcante nas últimas décadas, como tratamento alternativo aos medicamentos da medicina convencional (CARVALHO, 2007). Tal tendência é atribuída em parte, ao envelhecimento da população mundial, que em

sua maioria sofre de doenças crônicas, que requerem uso constante de medicamentos para seu controle. Os pacientes têm aceitado cada vez menos um regime de polifarmácia, se recusando a ingerir mais e mais medicamentos sintéticos, que podem apresentar uma série de efeitos colaterais. Assim, questionam seus médicos sobre alternativas naturais e enxergam a fitoterapia como uma opção razoável para o cuidado de sua saúde (CASTRO, 2010).

O surgimento do conceito de "natural" também contribuiu muito para o aumento do uso das plantas medicinais nas últimas décadas. Para muitas pessoas, esse conceito significa a "ausência de produtos químicos", que são aqueles que podem causar algum dano ou, de outra forma, representam perigo. Assim, produtos naturais passaram a ser sinônimo de produtos saudáveis, seguros e benéficos (MENGUE *et al.*, 2001). Além desses fatores, o aumento do uso das plantas medicinais também pode ser explicado pelo avanço ocorrido na área científica que permitiu o desenvolvimento de fitoterápicos confiáveis e eficazes. Porém, ainda faltam estudos científicos que comprovem a utilização segura e eficaz de várias plantas (RIBEIRO *et al.*, 2005).

Define-se como medicamento fitoterápico (Figura 2) aquele obtido utilizando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Não podem ser incluídos no medicamento fitoterápico substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais. O medicamento fitoterápico é ainda classificado como simples, quando tem como ativo apenas uma espécie vegetal e composto quando foi elaborado a partir de mais de uma espécie vegetal (BRASIL, 2010).

Figura 2: Medicamento fitoterápico manipulado em farmácia magistral

Fonte: <www.solardaservas.com.br>

O Brasil possui a maior diversidade vegetal do planeta, aproximadamente 55 mil espécies de plantas superiores, o que corresponde a 22% do total mundial (MELO, 2007). O uso dessas plantas, na manipulação dos fitoterápicos, traria vantagens para o país, como redução da importação de medicamentos promovendo, assim, a autossuficiência e proporcionando à população medicamentos mais baratos e maior valorização das tradições populares (GARLET; IRGANG, 2001).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população de países em desenvolvimento utilizam-se de práticas tradicionais na atenção primária à saúde e, desse total, 85% fazem uso de plantas medicinais. No Brasil não se sabe exatamente a porcentagem de pessoas que utilizam as plantas, mas, seguramente, essa tendência mundial também é seguida (CARVALHO, 2007).

O setor fitoterápico nacional conta com cerca de 200 empresas, movimentando em torno de US\$ 400 milhões, o que representa 6,7% das vendas de medicamentos em toda sua cadeia produtiva, e emprega mais de cem mil pessoas (ALVES *et al.*, 2008). O principal fator de atração é o ritmo de crescimento das vendas, mais de 15% anuais, frente 4% do que evoluem as vendas de medicamentos sintéticos (FEBRAFARMA, 2007).

Estes valores indicam um mercado promissor, considerando a extensa biodiversidade brasileira e a crescente aceitabilidade dos medicamentos fitoterápicos pela população. O comércio desses produtos pode ser um caminho para o desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira, se considerada a

dificuldade de competição com os mercados multinacionais de síntese química, e representam também uma oportunidade rentável para o setor magistral.

2.3 Controle microbiológico e limites microbianos

Os medicamentos não estéreis, onde se enquadram as cápsulas fitoterápicas, admitem uma carga limitada de microrganismos, por esse motivo o controle de qualidade microbiológico é importante, pois objetiva comprovar a ausência de microrganismos patogênicos e quantificar o número de microrganismos viáveis presentes na amostra estudada. Um medicamento contaminado por bactérias ou fungos em níveis acima do limite regulamentado, pode ter sua estabilidade comprometida, podendo resultar em perda da eficácia terapêutica; isso ocorre porque os microrganismos podem levar a alterações nos parâmetros físico-químicos, e estas consequentemente levam à degradação do princípio ativo (PINTO, 2000).

As drogas vegetais apresentam maior susceptibilidade à contaminação, em função das condições ambientais a que estão submetidas (contato com água, solo, ar) antes da coleta. Outros fatores também podem gerar uma contaminação, como por exemplo, as condições de manipulação, de secagem, armazenamento e processamento da droga. É importante, porém, ressaltar que essa contaminação microbiana pode ser controlada quando as espécies de plantas são cultivadas dentro de um padrão determinado, sendo esse controle extremamente importante para evitar que o medicamento seja veículo transmissor de doenças ou que tenha sua estabilidade alterada (CARDOSO, 2009).

A qualidade microbiológica dos medicamentos sintéticos e biológicos manipulados se relaciona com a ausência de patógenos e uma quantidade mínima de microrganismos não patogênicos (BRASIL, 2010). Os valores limites estabelecidos estão descritos no Quadro 1, e devem ser interpretados da seguinte forma: - 10^1 UFC/g: valor máximo aceitável = 20

- 10^2 UFC/g: valor máximo aceitável = 200

- 10^3 UFC/g: valor máximo aceitável = 2000 e, assim, sucessivamente.

Quadro 1: Limites microbianos em preparações de produtos não-estéreis

Via de administração	Bactérias aeróbias UFC/g ou mL	Fungos/leveduras UFC/g ou mL	Pesquisa de patógenos
Preparação aquosa para uso oral	10^2	10^1	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g, ou mL
Preparação não aquosa para uso oral	10^3	10^2	Ausência de <i>Escherichia coli</i> em 1g, ou mL
Preparação para uso retal	10^3	10^2	–
Preparação uso tópico (oromucosa, nasal, gengival, cutâneo, auricular)	10^2	10^1	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em 1g, ou mL
Inalatório	10^2	10^1	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e Bactéria Gram negativa bile tolerante em 1g, ou mL
Preparação vaginal	10^2	10^1	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> em 1g, ou mL
Dispositivo transdérmico	10^2	10^1	Ausência de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> /dispositivo

Fonte: BRASIL (2010).

Os limites microbianos estabelecidos para os medicamentos contendo matéria-prima de origem vegetal (Quadro 2) são baseados na forma como estes são utilizados, e são maiores quando comparados aos valores permitidos para medicamentos sintéticos.

Quadro 2: Limites microbianos para medicamentos contendo matéria-prima de origem vegetal

Via de administração	Bactérias aeróbias UFC/g ou mL	Fungos/leveduras UFC/g ou mL	Pesquisa de patógenos
Preparação para uso oral contendo matéria-prima de origem natural	10^4	10^2	Ausência de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em 1 g, ou mL. Ausência de <i>Salmonella</i> em 10 g, ou 10 mL. Limite máximo de 10^2 bactérias Gram negativa bile tolerante em 1 g, ou mL.
Drogas vegetais a processos extrativos a quente	10^7	10^4	-
Drogas vegetais que serão submetidas a processos extrativos a frio	10^5	10^3	-
Extrato seco	10^4	10^3	-
Tintura, Extrato fluido	10^4	10^3	-

Fonte: BRASIL, 2010.

2.4 Contaminação microbiana e os principais gêneros envolvidos

Os microrganismos estão cada vez mais presentes nas atividades humanas, podendo ser encontrados em quase todos os lugares, desde a água que se ingere ao ar que se respira. As condições ambientais, principalmente a temperatura e umidade, podem favorecer o desenvolvimento destes contaminantes, sendo a higiene e a limpeza armas eficazes no controle da contaminação do ar e das doenças causadas pelo ar contaminado (PINTO, 2000).

Fungos e bactérias são os principais contaminantes microbianos. Os fungos, quando presentes em grandes quantidades, são mais nocivos quando a formulação for indicada para uso tópico, especialmente se for aplicada em uma área lesada da pele, podendo resultar até em uma micose sistêmica em indivíduos com a imunidade comprometida (TONIN, 2007). Os gêneros mais comuns envolvidos em relatos de contaminação acima dos valores permitidos são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (MEDEIROS, 2007; VECCHIA, 2007); as espécies desse gênero são consideradas

importantes produtoras de micotoxinas, que são metabólitos tóxicos naturais e frequentemente encontrados em alimentos.

Em relação às bactérias, os gêneros contaminantes mais importantes são *Staphylococcus*, *Salmonella* e *Pseudomonas*, devido a seu potencial patogênico (BURTON, 1998; PINTO, 2000). Os *Staphylococcus* são bactérias Gram positivas e estão associados ao trato respiratório, intestino e pele do homem (TRABULSI *et al.*, 2008). Provavelmente as contaminações causadas pelo gênero se originam a partir de portadores assintomáticos por não tomarem os devidos cuidados no momento da manipulação; a perda de escamas do corpo, que em atividades normais é da ordem de 10^4 por minuto e também a presença da bactéria na roupa, também são potenciais causas da contaminação (KERN, 1999). As bactérias do gênero *Salmonella*, consideradas coliformes fecais, são indicadoras dos hábitos de higiene dos operadores e contaminam amostras devido a procedimentos utilizados na manipulação do produto, das condições de estocagem das matérias-primas e/ou da água utilizada na manipulação, visto que a *Salmonella* pode sobreviver por um determinado período em águas. Já as *Pseudomonas* geralmente estão presentes em áreas úmidas, como pias e drenos, e indicam contaminação indireta provocada por poeira ou água. Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* também podem estar presentes, na forma de esporos, transmitidos pela poeira ou estar contido na matéria-prima, que são formas resistentes às condições de desidratação.

O controle microbiológico de áreas de manipulação de medicamentos e cosméticos é de grande importância, pois evita problemas relacionados à contaminação microbiológica dos produtos manipulados. Essa contaminação pode comprometer a segurança e eficácia desses produtos, e também a garantia da qualidade e confiabilidade do laboratório. As matérias-primas também devem ser consideradas, uma vez que são ótimos meios para o desenvolvimento de bactérias e fungos (GONZÁLES *et al.*, 1990).

3. JUSTIFICATIVA

A farmácia magistral representa um segmento importante do mercado farmacêutico nacional, e com seu crescimento considerável, principalmente na década de 90, aumentou-se a preocupação com a qualidade e segurança dos produtos oferecidos. Os estudos referentes ao controle microbiológico do produto final ainda são escassos, porém os poucos realizados até o momento já foram capazes de relatar não conformidades com os padrões de qualidade exigidos devido à presença de contaminantes.

Dessa forma, faz-se extremamente importante desenvolver mais estudos sobre o perfil microbiológico dos medicamentos manipulados, em especial aqueles de origem vegetal, a fim de aumentar o conhecimento da população e comunidade científica sobre o tema, ao passo que estudos com resultados satisfatórios poderiam estimular uma maior confiança por parte da população nas farmácias magistrais, e os resultados fora dos padrões, poderiam servir de guia para que as autoridades responsáveis pela saúde pública adotassem medidas para prevenir contaminações microbianas nos medicamentos, evitando perda da estabilidade do produto e eliminando assim possível risco à saúde do usuário.

4. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a qualidade microbiológica das cápsulas fitoterápicas manipuladas em farmácias magistrais no município de João Pessoa - PB.

3.2 Específicos

- Avaliar os índices de contaminação microbiológica nas cápsulas fitoterápicas comercializadas pelas farmácias de manipulação;
- Em caso de crescimento, identificar quais os tipos de microrganismos presentes no medicamento;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Local da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Fisiologia e Patologia, localizado no Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

5.2 Plano de amostragem

As amostras em cápsulas foram adquiridas comercialmente, em três farmácias magistrais distintas (Quadro 3), sendo duas amostras de cada farmácia, que foram analisadas em triplicata (semeio em três placas de Petri contendo meio de cultura específico para fungos ou bactérias). As amostras foram analisadas no dia posterior à aquisição, estando portanto dentro do prazo de validade.

Quadro 3: Esquema fatorial incluindo os produtos e números de farmácias magistrais analisadas, em João Pessoa-PB.

Produtos	Farm ácia 1			Farm ácia 2			Farm ácia 3		
	Repetiç ões								
Ginkgo biloba 80 m g	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3
Cáscara Sagrada 320 m g	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3	R 1	R 2	R 3

5.3 Preparo dos meios de cultura para bactérias

Foram suspensos 37g do ágar Mueller Hinton (MH) desidratado em um litro de água destilada (Figura 3). Para auxiliar a dissolução, o meio foi aquecido sob agitação constante. Em seguida, foi esterilizado a 121° C durante 15 minutos. Quando o meio resfriou a uma temperatura de 60° C, adequada para o manuseio, foi distribuído em placas de Petri de 10 cm de diâmetro sobre uma superfície horizontal. Para o teste de esterilidade, os meios foram incubados a uma temperatura de 37° C durante 24h, e aqueles que apresentarem contaminação foram descartados.

Figura 3: Ágar Mueller Hinton utilizado para preparo do meio de cultura



Fonte: CARVALHO (2014).

5.4 Preparo dos meios de cultura para fungos

Para preparar o meio batata-dextrose-ágar (BDA) acidificado, foram colocadas batatas inglesas descascadas e fatiadas (140g) em uma panela com um litro de água fervente, até cozimento em “ponto salado” (Figura 4). Posteriormente o decocto foi filtrado para a obtenção do extrato líquido de batata. Foram adicionados ao extrato 10g de dextrose e 15g de ágar, seguida de dissolução dos componentes. O volume foi então completado para um litro com água destilada, sendo em seguida esterilizado em autoclave a 121° C por 15 minutos. Após resfriado a temperatura aproximada de 60° C, foi adicionado o ácido tartárico a 10% até o meio atingir pH 3,5, sendo verificado com papel indicador de pH. Em seguida, o meio foi distribuído em placas de Petri de 10cm de diâmetro, em uma quantidade aproximada de 10 a 15 mL de meio por placa, obtendo-se o meio sólido. Para as provas de contaminação os meios foram incubados a 25° C durante 24h, e aqueles que apresentaram contaminação foram descartados.

Figura 4: Batatas utilizadas na preparação do meio BDA

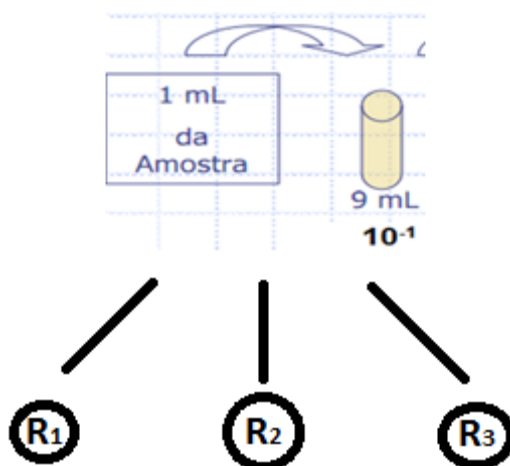


Fonte: CARVALHO (2014)

5.5 Método

Inicialmente, as embalagens primárias foram desinfetadas com álcool 70%. Em seguida foi pesado 1g de cada amostra, que foi diluída em 9mL de água destilada esterilizada e homogeneizada, obtendo desta forma uma diluição decimal. Do tubo de ensaio contendo a diluição decimal (10^{-1}), foi retirado 1mL e adicionado a outro tubo de ensaio também contendo 9mL, atingindo uma diluição de 10^{-2} , que foram as utilizadas no experimento. Posteriormente, 0,1mL destas diluições foram semeados em meio de cultura ágar Mueller-Hinton (Merck®) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), em triplicata, para bactérias (Figura 5). Para fungos, foi utilizada a mesma diluição e semeada em meio BDA acidificado com pH 3,5, também em triplicata (SINGH *et al.*, 1991, BARNES; MARR, 2006). O espalhamento foi efetuado com movimentos cuidadosos com auxílio de uma alça de Drigalski (bastão em forma de L). Para controle negativo foi utilizada a própria água destilada e esterilizada usada para diluição das amostras. As placas foram então incubadas para observar o crescimento (bactérias a 37° C durante 72h e fungos a 25° C durante sete dias, em posição invertida).

Figura 5: Esquema da diluição seriada das amostras



Fonte: Carvalho, 2014.

R₁, R₂ e R₃ representam os meios de cultura em placas de Petri.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população bacteriana e fúngica presente nas amostras precedentes das farmácias magistrais de João Pessoa estão descritas no quadro 4.

O meio Mueller Hinton foi utilizado para o cultivo de bactérias por se tratar de um meio não seletivo, onde crescem tanto bactérias Gram negativas quanto Gram positivas, e seu principal uso é no antibiograma. As placas de MH semeadas não apresentaram crescimento de colônias nas diluições testadas. Para o cultivo de fungos foi utilizado o meio BDA, que permite o crescimento de fungos leveduriformes e filamentosos, e impede o crescimento de bactérias devido ao pH acidificado. Nas placas de BDA semeadas com as amostras também não houve crescimento de colônias nas diluições testadas.

Quadro 4: População bacteriana e fúngica presente nas cápsulas manipuladas em três farmácias magistrais de João Pessoa-PB, em 2014.

Diluições	Ginkgo biloba Farmácia 1	Cáscara Sagrada Farmácia 1	Ginkgo biloba Farmácia 2	Cáscara Sagrada Farmácia 2	Ginkgo biloba Farmácia 3	Cáscara Sagrada Farmácia 3
			Bactérias	(UFC/g)		
10^{-1}	0	0	0	0	0	0
10^{-2}	0	0	0	0	0	0
			Fungos	(UFC/g)		
10^{-1}	0	0	0	0	0	0
10^{-2}	0	0	0	0	0	0

Esta ausência de crescimento permite afirmar que as amostras testadas obedecem aos limites estipulados pela Farmacopeia Brasileira e pela ANVISA (BRASIL, 2010; BRASIL, 1999). Dados da literatura associam as matérias-primas de origem vegetal a níveis mais altos de contaminação, porém neste estudo essa correlação não foi observada. As cápsulas, por se tratarem de forma farmacêutica sólida, possuem uma atividade de água menor do que aquelas formas líquidas, fator que desfavorece o crescimento microbiológico; outra possibilidade é de que as

farmácias de manipulação estudadas adquiram essa matéria-prima vegetal de fornecedores qualificados, que realizam um controle microbiológico dos seus produtos (YAMAMOTO *et al.*, 2004).

Lucena (2014) analisou seis amostras adquiridas em uma farmácia magistral, sendo uma dessas amostras da forma farmacêutica cápsula, e concluiu que não houve crescimento microbiano em nenhuma das amostras, corroborando com os resultados deste trabalho. Já Verdi (2013), analisou 12 amostras de cápsulas fitoterápicas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade, e os resultados demonstraram que 60% destas possuíam microrganismos acima dos limites permitidos. Medeiros (2007) analisou nove amostras de xaropes e loções manipuladas em farmácias magistrais do município de Campina Grande-PB e constatou que 55% destas apresentavam valores de microrganismos acima dos valores estabelecidos na legislação pertinente. Conforme os resultados positivos destes últimos autores justifica-se a preocupação de que novos trabalhos sejam desenvolvidos, bem como a necessidade de fiscalização por parte da ANVISA.

Apesar de existirem ainda poucos estudos publicados nessa área, a perspectiva é que nos próximos anos esse número aumente, visto o crescimento considerável do setor de manipulação e a busca incessante da qualidade em todo o processo de fabricação, para obtenção de um produto final confiável, não apenas do ponto de vista terapêutico, mas principalmente do ponto de vista da qualidade microbiológica.

7. CONCLUSÃO

Com base nos resultados observados, pode-se afirmar que todas as amostras das farmácias estudadas atendem às especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira e ANVISA. Este fato reforça a importância da aplicação na prática daquilo que é preconizado pela RDC 67/07, que rege as Boas Práticas de Manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias com a finalidade de efetuar um controle das possíveis fontes de contaminação de um produto farmacêutico. Portanto, não há nenhum risco no consumo destes medicamentos testados pela população, em relação à qualidade microbiológica.

8. REFERÊNCIAS

ALVES, N.D.C.; SANTOS, T.C.; RODRIGUES, C.R.; CASTRO, H.C.; LIRA, L.M.; DORNELAS, C.B. *et al.* Avaliação da adequação técnica de indústrias de medicamentos fitoterápicos e oficinais do Estado do Rio de Janeiro. **Ciência & Saúde Coletiva**. 2008; 13(suppl):745-53.

ANDRADE, F.R.O.; SOUZA, A.A.; ARANTES, M.C.B.; BARA, M.T.F.. Análise microbiológica de matérias primas e formulações farmacêuticas magistrais. **Revista Eletrônica de Farmácia**. 2(2):38-44, 2005.

BARG & MATOS, O **Mercado Magistral e suas Perspectivas - Educação Continuada Gratuita** Volume 1, disponível online em : <<http://www.pharmaceutical.com.br/noticias/perspectivas-mercado-magistral.htm>l> Acesso em : 31/07/2014.

BARNES, B. D; MARR, K. A. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. **Infect. Dis. Clin. N. Am.** 20 USA, 545-561, 2006

BIANCO, M.I; LÚQUEZ, C.; JONG, L.I.T; FERNANDES, R.A. Presence of *Clostridium botulinum* spores in *Matricaria chamomilla* (chamomile) and its relationship with infant botulism. **International Journal of Food Microbiology**, v.121, n.3, p.357-60, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Subsídios à discussão sobre a proposta de regulamentação para farmácias magistrais. **Rev. Saúde Publ.** 2005; 39(4):42-6.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução 67 de 08 de outubro de 2007. **Resolução da diretoria colegiada institui as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinais para Uso Humano em farmácias**. Brasília, 2007. Disponível em : <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao67_08_10_07.pdf> Acesso em : 14/03/2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e identificação dos fungos de importância médica**. Módulo 7 – Brasília: Anvisa, p.13-86 2004.

Disponível em :

<http://www.anvisa.gov.br/servicos/audemicrobiologia/mod_7_2004.pdf>. Acesso

em : 02/03/2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos** – Uma abordagem sobre os ensaios físico-químicos. 2ª Ed., revista – Brasília: Anvisa. p. 20 a 26, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 14 de 30 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa nacional de controle de infecção** “Orientações para a elaboração de um manual de boas práticas em bacteriologia”.

Instituto Nacional de saúde Dr. Ricardo Jorge, p. 11-12, 2004. Disponível em :

<<http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i008546.pdf>> Acesso em : 24/02/2014.

BRASIL. Resolução nº. 481, de 23 de setembro de 1999. **Define os limites permitidos de carga microbiana para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes**. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

CARDOSO, C.M.Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral**, São Paulo: Pharmabooks, 2009.

CARVALHO, A.C.B. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **Revista T&C Amazônia**, Ano V, Número 11, pag. 26-32, 2007.

Disponível em :

<http://200.198.201.69/medicamentos/fitoterapicos/aspectos_legislacao.pdf> Acesso

em : 01/08/2014

CASTRO, M.S.; BARROS, N.F.; ALEGRE, S.M.; HOEHNE, E.L. O uso de terapia alternativa e complementar por pacientes diabéticos do tipo 2. **Brasília Médica**. 2010; 47(1):17-25.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA: **PARTE I**. 5 Ed. Brasília, 2010. Disponível em :
<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/pdf/volume1.pdf>

FEBRAFARMA. **Fitoterápico atrai investimentos**. Federação Brasileira da Indústria Farmacêutica; 2007. Disponível em :
<<http://www.febrafarma.org.br/areas.php?area=pu&secao=38&modulo=materias>>.
Acesso em : 30/07/2014.

GARLET, T.M.B.; IRGANG, B.E. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev Bras P I Med** 4: 9-18, 2001.

GONZÁLES, M. M. *et al.* Desenho de um método para a seleção de pontos de amostragem no controle ambiental de áreas limpas. **Revista Brasileira de Farmácia**, vol. 79, p. 11-14, 1990.

GUEDES, H. – RDC 67: momento de adequação. **Revista Anfarma g**, ano XIII, nº 69, novembro/dezembro 2007, São Paulo, p. 11-13.

KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. **Micologia Médica: texto e Atlas**. 2 Ed., São Paulo: Editora Premier, 1999.

LUCENA, K.L. Qualidade microbiológica de formulações farmacêuticas de uma farmácia magistral no município de João Pessoa-PB. 2014. N° 43 pag. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Farmácia) – CCS/UFPB João Pessoa – PB.

MEDEIROS, A.C.D.; PORTO, K.L.; PAIVA, A.V.R.; PROCÓPIO, J.V.V. Análise de contaminantes microbiológicos em produtos comercializados em farmácia de manipulação. **Revista da Biologia e Farmácia**, v.1, n.1. Disponível em :
<http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v1n12007/pdf_analise_de_contaminantes_microbiologicos.pdf>. Acesso em : 08/08/2014

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon*

citratus(DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Bot Bras** 21: 27-36, 2007.

MENGUE, S.S.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Rev Bras Farmacogn** 11: 21-35, 2001.

MÜLLER, P.; BASEDOW, T. Aflatoxin contamination of pods of Indian *Cassia senna* L. (Caesalpinaceae) before harvest, during drying and in storage: Reasons and possible methods of reduction. **Journal of Stored Products Research**, v.43, p.323-329, 2007.

PINTO, T. de J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Contaminação microbiana em produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. **Controle microbiológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu, p. 51-73, 2000.

RIBEIRO, A.Q.; LEITE, J.P.V.; BARROS, A.M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Rev Bras Farmacogn** 15: 65-70, 2005.

SINGH, K.; FRISVAD, J.C.; THRANE, U.; MATHUR, S.B. **An illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia ad their mycotoxins**. Ed. Denmark, 1991.

SUTTON, S.; SINGER, D. C. Microbiological Best Laboratory Practices, USP <1117> Value and Recent Changes to a Guidance of Quality Laboratory Practices. **American Pharmaceutical Review**. Vol.14, Issue 4. USA. 2011.

TONIN, F. Z.; BARELLI, C.; KNORST, M. T. Avaliação microbiológica de produtos cosméticos manipulados em farmácias do Planalto Médio, RS. **Revista Pharmacia Brasileira**, vol. 19, p. 117-119, 2007.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia** 5.ed. São Paulo: Atheneu, p.21-36, 2008.

VERDI, S.; YOUNES, S.; BERTOL, C.D.; Avaliação da qualidade microbiológica de cápsulas e chás de plantas utilizadas na assistência ao tratamento da obesidade.

Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.4, p.494-502, 2013. Disponível em :
<<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v15n4/a04v15n4.pdf>> Acesso em : 13/03/2014

YAMAMOTO, C.L.; PINTO, T.J.A.; MEURER, V.M.; CARVALHO, A.M.; REZENDE, P. Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na Zona da Mata, MG. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária**, 2004. Disponível em :
<<https://www.ufmg.br/congrext/Desen/Desen7.pdf>> Acesso em : 11/03/2014

ZARONI *et al.* Qualidade Microbiológica das plantas medicinais produzidas no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 14, n. 1, p.29-39, 2004. Disponível em :
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102695X200400100005>
Acesso em : 15/03/2014